Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Kaiserin Auguste Victoria Haus)
Komm. Direktor: Professor Dr. Leonore Ballowitz

DIE PROPHYLAXE DES KERNIKTERUS DURCH PREDNISOLON IM TIERVERSUCH

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus-Dietrich Groth
Ballenstedt

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0099

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Kaiserin Auguste Victoria Haus)
Komm. Direktor: Prof. Dr. Leonore Ballowitz

Die Prophylaxe des Kernikterus durch Prednisolon im Tierversuch

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus-Dietrich Groth
Ballenstedt

Referent: Priv.-Doz. Dr. Jürgen Natzschka

Korreferent: Professor Dr. H. Herken

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24. 5. 1973

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Methodik	4
I. Tiermaterial	4
II. Versuchsanordnung	5
III. Versuchsprotokoll	7
IV. Bestimmung des Gesamt-Bilirubin im Serum	9
V. Bestimmung des Hämatokrit	11
C. Ergebnisse	12
I. Ermittlung der optimalen Prednisolondosis	12
II. Ergebnisse des Hauptversuches	15
III. Versuche zum Wirkungsmechanismus	20
D. Diskussion	21
E. Zusammenfassung	25
F. Literaturverzeichnis	26

Prophylaxe des Kernikterus durch Prednisolon im Tierversuch

Einleitung

Anfang dieses Jahrhunderts beschrieb der Pathologe SCHMORL bei Neugeborenen mit starkem Ikterus eine Gelbfärbung des Gehirns. Da diese Verfärbung besonders stark in den basalen Hirnkernen zu finden war, prägte er den Begriff "Kernikterus". Mehrere Jahrzehnte glaubte man, daß Gallenfarbstoffe nur in geschädigtes oder untergegangenes Hirngewebe eingelagert würden. Heute gilt es als sicher, daß der Kernikterus meist auf einer direkten Schädigung des Gehirns durch das toxische unkonjugierte Bilirubin beruht (ZUELZER und MUDGETT 1950, CRIGLER und NAJJAR 1952, HSIA und Mitarb. 1952, CLAIREAUX und Mitarb. 1953, WATERS und Mitarb. 1954, MEYER 1956, HAYMAKER und Mitarb. 1962, STERN und DENTON 1956). Man bevorzugt daher neuerdings oft den Ausdruck "Bilirubin-Encephalopathie" an Stelle von "Kernikterus".

Unkonjugiertes Bilirubin ist im Blutplasma im molaren Verhältnis von 1 : 1 relativ fest an Albumin gebunden (MARTIN 1940, ODELL 1959). Das entspricht bei einem Albumingehalt von 2,5 % etwa einer Bilirubinkonzentration von 20 mg%. Wird dieser Wert bei einer Hyperbilirubinämie überschritten oder die Bindungsfähigkeit des Albumins durch eine Azidose oder durch die Anwesenheit von um die Albuminbindung konkurrierenden organischen Anionen herabgesetzt, so diffundiert Bilirubin in die Gewebe (ODELL 1959 und 1966, JOHNSON und Mitarb. 1961, DIAMOND und SCHMID 1966, NATZSCHKA und ODELL 1966). Es lagert sich wegen seiner Lipoidlöslichkeit besonders im Fettgewebe und im Zentralnervensystem ab. Es dringt in die Nervenzellen ein und schädigt ihren Stoffwechsel irreversibel (SILBERBERG und SCHUTTA 1967). Da ein Kernikterus fast nur in den ersten Lebenswochen auftritt, nahm man bisher an, daß die Bluthirnschranke in diesem Lebensabschnitt

für Bilirubin besonders durchlässig sei (ERNSTER und Mitarb. 1957, ROZDILSKY und OLSZEWSKI 1957, CHEN und Mitarb. 1965). SCHUTTA und JOHNSON (1969) haben jedoch festgestellt, daß diese Hypothese nicht stimmt. Die erhöhte Gefährdung des Neugeborenen durch Kernikterus rührt vielmehr daher, daß starke Gelbsucht infolge einer Erhöhung der Konzentration unkonjugierten Bilirubins im Plasma beinahe ausschließlich in diesem Lebensabschnitt vorkommt, in welchem die Albuminkonzentration im Plasma zudem niedriger ist als später. Patienten mit einem Crigler-Najjar-Syndrom, die auf Grund eines Enzymmangels lebenslang eine starke Gelbsucht mit nur unkonjugiertem Bilirubin im Plasma haben, bekommen zum Teil erst als Erwachsene einen Kernikterus (AZIZ und SIDDIQUI 1967, BLUMENSCHEIN und Mitarb. 1968).

Der Mechanismus der cytotoxischen Wirkung des Bilirubins ist noch nicht völlig geklärt. Durch Studien in vitro wurde festgestellt, daß Bilirubin die Zellatmung verschiedener Gewebe hemmt (DAY 1954 und 1956, BOWEN und WATERS 1957 und 1958). ZETTERSTRØM und ERNSTER konnten 1956 nachweisen, daß Bilirubin die oxydative Phosphorylierung in isolierten Mitochondrien entkoppelt. Diese Befunde wurden von ERNSTER selbst und von anderen Autoren wiederholt bestätigt (ERNSTER und Mitarb. 1957, ERNSTER 1961, COWGER und Mitarb. 1965, MENKEN und Mitarb. 1966, VOGT und BASFORD 1968). Außerdem soll Bilirubin den Einbau von Aminosäuren in Proteine hemmen (QUASTEL und BICKIS 1959, COWGER und Mitarb. 1965). SCHENKER und Mitarb. (1966) untersuchten die oxydative Phosphorylierung im Gehirn junger Gunn-Ratten mit Kernikterus. Sie fanden im Kleinhirn dieser Tiere einen im Vergleich zu normalen Ratten herabgesetzten Sauerstoffverbrauch und eine verminderte Konzentration an Adenosintriphosphat. 1967 haben DIAMOND und SCHMID sowie MENKEN und WEINBACH Zweifel daran geäußert, daß die Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung in den Mitochondrien den entscheidenden Mechanismus der toxischen Wirkung von Bilirubin auf die Ganglienzellen darstellt. An isolierten

Hirnmitochondrien von neugeborenen Tieren mit Kernikterus konnten sie keine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung nachweisen. Außerdem hatten die Tiere einen Kernikterus, obwohl die Bilirubinkonzentration in ihrem Gehirn wesentlich unter derjenigen lag, die zu einer Entkopplung in vitro notwendig ist. SCHUTTA und Mitarb. (1970) unterstützen auf Grund ihrer histologischen und elektronenoptischen Befunde die von DIAMOND und SCHMID sowie von MENKEN und WEINBACH geäußerten Zweifel.

Die heute übliche, als wirkungsvoll erkannte Prophylaxe des Kernikterus bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie besteht in der Entfernung des Bilirubins durch eine Austauschtransfusion. Auch intravenöse Gaben von Humanalbumin üben einen Schutzeffekt aus (WATERS 1961, ROZDILSKY 1966, DIAMOND 1966, DIAMOND und SCHMID 1966).

In einer 1967 veröffentlichen Arbeit berichten RUHRMAN und STÜRMANN über die Behandlung von über 50 Neugeborenen und Frühgeborenen, die an einer Erythroblastose mit Hyperbilirubinämie erkrankt waren, mit hohen Dosen von Prednison. Die Autoren räumen ein, daß das Prednison weder die Ausscheidung des Bilirubins fördert noch ein Absinken der Bilirubinkonzentration im Plasma bewirkt. Sie nehmen aber an, daß die Steroide den toxischen Effekt von Bilirubin auf die Ganglienzellen des Gehirns verhindern. Wir waren über den Mut der Autoren erstaunt, eine theoretisch wenig begründete und bisher experimentell noch nicht gestützte, risikoreiche Behandlungsmethode anzuwenden, wo doch die Austauschtransfusion eine sichere und bewährte Therapiemöglichkeit darstellt.

Es war die Aufgabe der folgenden Arbeit, tierexperimentell die Hypothese von RUHRMANN und STÜRMANN zu überprüfen und festzustellen, ob Prednison in hoher Dosierung die Bilirubinencephalopathie verhindern kann.

Methodik

Tiermaterial

Als Versuchstiere verwendeten wir neugeborene Gunn-Ratten. Bei der Gunn-Ratte handelt es sich um eine Variante der Wistar-Ratte, die 1934 offenbar durch Mutation in den Connaught Laboratorien in Toronto/Kanada auftrat und 1938 von GUNN zum ersten Mal beschrieben wurde. Besonderes Merkmal der homozygoten Gunn-Ratten ist eine lebenslange Gelbsucht vom acholurischen Typ. Wie MALLOY und LÖWENSTEIN 1940 feststellten, kommt der Ikterus dadurch zustande, daß die Tiere unfähig sind, bei der Diazoreaktion indirekt reagierendes Bilirubin in direkt reagierendes umzuwandeln. Als Ursache dafür ergab sich ein Mangel an Glucuronyltransferase in der Leber, der autosomal rezessiv vererbt wird (CARBONE und GRODSKY 1957, SCHMID und Mitarb. 1958). Dieses in den Mikrosomen der Leberzellen vorhandene Enzym bewirkt die Konjugation des Bilirubins mit Glucuronsäure und ermöglicht dadurch seine Ausscheidung mit der Galle (BILLING und LATHE 1956, SCHMID 1956, TALAFANT 1956).
Bei den heterozygoten Gunn-Ratten, deren Glucuronyltransferase-aktivität etwa auf die Hälfte vermindert ist, sind die Bilirubinwerte im Serum normal. Die homozygoten Gunn-Ratten jedoch, die mit normalen Bilirubinwerten geboren werden, entwickeln in den ersten Lebenstagen eine starke Hyperbilirubinämie, da bei ihnen die Glucuronyltransferase in der Leber fast vollständig fehlt. In der 2. - 3. Lebenswoche bekommen ca. 60 % aller homozygoten Gunn-Ratten Zeichen eines Kernikterus. Etwa die Hälfte dieser Tiere stirbt an den Folgen der Bilirubinencephalopathie. Die anderen Tiere behalten lebenslange Schäden, wie Ataxien und motorische Ausfallserscheinungen, zurück (BLANC und JOHNSON 1959, SCHUTTA und JOHNSON 1967).

Wie JOHNSON und Mitarbeiter 1961 zeigen konnten, läßt sich in 100 % der Fälle bei jungen Gunn-Ratten ein Kernikterus erzeugen,

wenn man den Tieren Substanzen gibt, die das Bilirubin aus seiner Albuminbindung verdrängen und es in die Gewebe diffundieren lassen. Dazu eignen sich Salicylate, Coffein, freie Fettsäuren, Sulfonamide, z.B. Sulfadimethoxin (Madribon) (SCHUTTA und JOHNSON 1969). Eine einmalige Injektion von 200 mg/kg Madribon bewirkt z.B. innerhalb von 24 Stunden einen Abfall der Bilirubinkonzentration im Serum um 8 mg%. Dabei sterben ca. 80 % der Versuchstiere infolge eines Kernikterus. Bei Applikation geeigneter Dosen Madribon könnte nun untersucht werden, ob das Auftreten von Kernikterus durch vorherige oder gleichzeitige Prednisongaben verhindert werden kann.

Den Grundstock unserer Gunn-Ratten-Kolonie bildete ein Paar, das der Kinderklinik der Freien Universität Berlin im Jahre 1965 von Dr. I.M. ARIAS (Albert Einstein College of Medicine) freundlicherweise überlassen wurde. Zur Zucht wurden stets homozygote (jj) Männchen mit homocygoten (jj) oder mit heterocygoten (Jj) Weibchen gepaart. Dadurch wurde vermieden, daß Tiere ohne Enzymdefekt, also mit der Anlage JJ, geboren wurden. Mit den homozygoten Weibchen waren die Aufzuchtergebnisse schlechter als mit den heterocygoten Muttertieren. Dies beruhte wahrscheinlich auf den cerebralen Schäden der ikterischen Muttertiere.

Versuchsanordnung

Es wurden jeweils zwei Weibchen und ein Männchen in einen Käfig gesetzt und in einem gesonderten, abgedunkelten Zuchtraum mit 27° C Temperatur gestellt. Die nach etwa drei Wochen Tragezeit geborenen Würfe bestanden nur aus homozygoten Jungen, wenn beide Eltern homozygot waren. Dagegen wurden nach Paarung eines jj-Männchens mit einem Jj-Weibchen etwa 50 % homozygote und 50 % heterozygote Tiere geboren. Wir setzten jedes Muttertier mit seinem Wurf in einen separaten Käfig, um für die Jungtiere optimale Bedingungen zu schaffen.

Die Versuche an den neugeborenen Gunn-Ratten wurden begonnen, wenn die Tiere 7 - 11 Tage alt waren. Ein Versuchsbeginn zu späterem Zeitpunkt wäre ungünstig gewesen, da in der 2. - 3. Lebenswoche bei 60 % aller homozygoten Ratten spontan ein Kernikterus auftritt. Die neugeborenen, 7 - 10 g schweren Tiere jedes Wurfes wurden hinsichtlich Gewicht und Geschlecht in zwei gleiche Gruppen geteilt. Versuchstiere und Kontrolltiere zeichneten wir anfangs alternierend durch Kappen des Schwanzes. Später zeichneten wir die mit Prednisolon behandelten Ratten durch Marken im rechten und die Kontrolltiere durch Marken im linken Ohr. Prednisolon, 0,9 %ige Kochsalzlösung und Sulfadimethoxin wurden durch subcutane Injektion appliziert. Das ließ sich gut bewerkstelligen, wenn man unter die in einer Falte abgehobene Rückenhaut der Tiere mit einer Insulinspritze durch eine feine Nadel (Nr. 20) injizierte. Bei zwei Würfen verabreichten wir Prednisolon bzw. Kochsalzlösung oral mit Hilfe einer fein ausgezogenen Polyäthylensonde. Nach einigen Tagen, in den Hauptversuchen stets nach drei Tagen, wurde bei den Tieren ein Kernikterus provoziert, und zwar meistens durch subcutane Injektion von Natrium-Sulfadimethoxin (Madribon). Die Folgen des Kernikterus bzw. das Ausbleiben der Symptome einer cerebralen Schädigung notierten wir am folgenden Tage. Wir legten, gemessen an klinischen Zeichen, drei Schweregrade des Kernikterus fest:

I.: Geringe Symptome einer Schädigung, wie Ataxie, mangelnde Koordination, fehlende Haltungsreflexe

II.: Schwere Symptome des Kernikterus, wie Hypotonie der Muskulatur, Athetose, Irritierbarkeit

III.: Moribunde Tiere, Opisthotonus und Krämpfe.

Die heterozygoten jungen Gunn-Ratten aus gemischten Würfen (Vater jj, Mutter Jj) wurden ebenso behandelt wie die homozygoten Tiere derselben Würfe. Wir konnten so die Wirkung der gegebenen Pharmaka an nicht ikterischen Ratten gleichen Alters studieren, so zum Beispiel den Effekt hoher Dosen von Prednisolon. Die hierbei festgestellten Wirkungen wurden bei der Beurteilung der behandelten gelbsüchtigen Ratten berücksichtigt.

Versuchsprotokoll

Wurf Nr. 29 (männlich ♂♂ 135, weiblich ♂♂ 204), geboren am 18.4.68, Versuchsbeginn am 27.4.68, es leben noch 9 junge Gunn-Ratten. Den fünf Tieren, die mit Prednisolon behandelt werden sollen, werden feine Marken an verschiedenen Stellen in das rechte Ohr, den vier Kontrolltieren in das linke Ohr geknipst. Wir injizieren den Versuchstieren subcutan 3 mg/kg Prednisolon Hydrat als Suspension in 0,9 % Kochsalzlösung (3 mg/10 ml). Bei Gewichten von 14 bzw. 15 g sind das 0,14 bzw. 0,15 ml pro Tier. Den vier Kontrolltieren geben wir 10 ml 0,9 % Kochsalzlösung/kg. An den folgenden zwei Tagen wird ebenso verfahren. Die Gewichte sind in der Tabelle aufgeführt. Am vierten Tag werden bei jedem Tier zur Bestimmung von Hämatokrit und Bilirubinkonzentration im Serum ca. 20 µl Blut aus dem Schwanz abgenommen (siehe Tab. II). Wir geben allen Tieren zusätzlich zu Prednisolon bzw. NaCl-Lösung eine subcutane Injektion von 150 mg/kg Madribon (150 mg/10 ml). Am fünften Tag werden nochmals Gesamtbilirubin im Serum und Hämatokrit bestimmt, soweit die Tiere am Leben sind. Es zeigt sich folgendes Ergebnis der Madribongabe am Vortag (siehe Tab. I): Von den mit Prednisolon vorbehandelten jungen Gunn-Ratten ist ein Tier eingegangen, die anderen vier sind unauffällig und haben im Vergleich zum Vortage an Gewicht zugenommen. Von den Kontrolltieren ist eines eingegangen. Ein Tier hat einen Kernikterus III. Grades und ein Tier

einen Kernikterus II. Grades. Eine Kontrollratte ist symptomfrei. Wir geben nochmals Prednisolon bzw. NaCl und Madribon 150 mg/kg. Am sechsten Versuchstag sind alle Prednisolon-Tiere frei von Symptomen. Zwei Kontrolltiere haben einen Kernikterus III. Grades, eins ist unauffällig. Die Versuchstiere bekommen wiederum 3 mg/kg Prednisolon s.c., die Kontrollratten 10 ml/kg 0,9 NaCl-Lösung. Am siebenten und letzten Versuchstag hat von den vier überlebenden mit Prednisolon behandelten Gunn-Ratten eine einen Kernikterus I. Grades, alle Kontrolltiere bis auf eines sind eingegangen.

Tab. I Schema zum Versuchsprotokoll S. 7
Wurf Nr. 29 Vater ♂♂ 135 (Mutter ♂♂ 204)
geb. am 18.4.68, Versuchsbeginn 27.4., 9 Tiere lebend
I = K.I. 1. Grades, II = K.I. 2. Grades, III = K.I. 3. Grades
P = Prednisolon - K = Kontrolltiere

	NaCl bzw. Prednisolon			SDMO 150 mg/kg			
Lebenstag	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
Gewicht in g	15	18	17	16	+		
P	15	18	18	18	22	21	21
♂♂	14	18	16	17	21	20	21
	14	17	15	15	18	17	17_{I}
	15	17	16	17	24	23	25
Gewicht in g	16	18	19	21	26	26	28
K	15	18	18	19	16	16	+
						III	
♂♂	15	17	18	20	18	17	+
						II	
	12	16	15	16	+		

Tab. II Gesamtbilirubin und Hämatokrit bei Wurf Nr. 29 vor und nach Gabe von SDMO 150 mg/kg
P = Prednisolon behandelte Tiere - K = Kontrolltiere

	Hkt.	Ges.Bilir. mg%	Hkt.	Ges.Bilir. mg%
P	30	15,5	+	
	25	16,1	36	5,8
	32	12,2	38	4,0
	30	10,0	36	3,5
	-	-	36	3,8
K	36	13,0	32	3,3
	34	14,4	38	3,5
	25	13,7	38	3,8
	32	13,6	+	

Biochemische Analysen

Bestimmung des Gesamt-Bilirubin im Serum

Das Gesamt-Bilirubin im Serum wurde mit einer Mikromodifikation der von G. SCHELLONG und H. WENDE angegebenen Methode bestimmt. Direktes (konjugiertes) Bilirubin, indirektes (unkonjugiertes) erst nach Zugabe von Coffeinlösung, gibt mit einem Gemisch von Diazo I und Diazo II einen roten Azofarbstoff, dessen Menge der vorhandenen Bilirubinkonzentration proportional ist. Durch Zugabe von Fehling II-Lösung wird der rote Farbstoffkomplex in einen stabileren blauen übergeführt, dessen Extinktion im Photometer bei 578 nm gemessen werden kann. Der Reihe nach werden in Reaktionsgefäße aus Polyäthylen pipettiert:

	Hauptversuch	Leerversuch
0,9 % NaCl	0,09 ml	0,09 ml
Serum	0,01 "	0,01 "
Coffeinlösung	0,20 "	0,20 "
Diazogemisch	0,05 "	-
Aqua dest.	-	0,05 "
Nach 10 Minuten		
Fehling II	0,15 ml	0,15 ml

Nach weiteren 5 Minuten wird die Extinktion der Versuchslösung in einem Eppendorf-Photometer gegen den Leerwert gemessen (Mikrokuvette 10 mm, Filter 578 nm)
Berechnung: Extinktion x 45,9 = Ges.-Bilirubinkonzentration in mg%.

Reagenzien

1. Coffeinlösung
   - Coffein 25,0 g
   - Na-acetat 62,5 g
   - Na-benzoat 37,5 g
   - Aqua dest. ad 500 ml
2. Diazo I
   - Sulfanilsäure 5,0 g
   - Aqua dest. ad 1000 ml
3. Diazo II
   - Natriumnitrit 0,5 g
   - Aqua dest. ad 100 ml
4. Diazogemisch (jeweils frisch herzustellen):
   - Diazo I 10,0 ml
   - Diazo II 0,25 ml

3. Fehling II

Kaliumnatriumtartrat		35,0 g
Natriumhydroxid		10,0 g
Aqua dest.	ad	100 ml

Bestimmung des Hämatokrit

Der Hämatokrit wurde nach 5 Minuten langem Zentrifugieren von Mikrohämatokritröhrchen in der Ecco-Quick-Zentrifuge abgelesen (13000 U/min).

Ergebnisse

Ermittlung der optimalen Prednisolondosis

Bei der Ermittlung der optimalen Prednisolondosis mußten wir im wesentlichen zwei Gesichtspunkte berücksichtigen: Einerseits sollte die Prednisolondosis so hoch sein, daß ein Effekt auf die Entwicklung des Kernikterus bei den Tieren zu erwarten war, andererseits verursacht die Applikation großer Corticoidmengen erhebliche Störungen des Wachstums und der Widerstandskraft. Wie WINICK und COSCIA zeigen konnten, entsteht nach einer einmaligen Verabreichung von 1 mg Cortisonacetat, - das entspricht etwa einer Dosis von 28 mg/kg Prednisolon -, bei neugeborenen Ratten ein typisches "runting syndrome", dessen Kardinalsymptom eine mangelnde Gewichtszunahme ist. Hohe Dosen von Cortisonacetat führen nach Angabe der Autoren besonders im lymphatischen Gewebe - Milz, Thymus - zu zelliger Degeneration und beeinflussen so die immunologische Toleranz. Bei unseren, mit täglich 5 mg/kg Prednisolon behandelten, jungen Gunn-Ratten beobachteten wir neben dem Gewichtsverlust gegenüber den Kontrolltieren ein struppiges,stumpfes Fell und wesentlich erhöhte Letalität.

Zur Orientierung begannen wir mit einer Dosis von 5 mg/kg Prednisolonhydrat, das als Kristallsuspension täglich subcutan injiziert wurde. Tab. III zeigt die Ergebnisse bei einem Wurf von 9 homozygoten Gunn-Ratten, von denen 4 vom 5. Lebenstag an täglich 5 mg/kg Prednisolon erhielten. Bereits am 10. Lebenstag, also nach 5 Injektionen, waren zwei der mit Prednisolon behandelten Tiere eingegangen. Die beiden restlichen Tiere dieser Gruppe waren im Vergleich zu den 5 Kontrolltieren im Wachstum und Gewicht zurückgeblieben und hatten ein struppiges, stumpfes Fell. Überraschenderweise zeigte sich jedoch, daß nach der Injektion von 200 mg/kg SDMO am 18. Lebenstag beide mit Prednisolon vorbehandelte Gunn-Ratten am Leben blieben, während vier der fünf Kontrolltiere nach Gabe der gleichen Dosis SDMO,

bezogen auf das Körpergewicht, unter den Zeichen eines Kernikterus starben. Die Wiederholung dieses Versuches bei einem 2. Wurf brachte das gleiche Ergebnis (Tab. IV). Es schien so, als ob eine Vorbehandlung mit Prednisolon einen gewissen Schutzeffekt gegen die Entstehung einer Bilirubinencephalopathie ausüben könnte. Allerdings war die gewählte Dosis von 5 mg/kg/Tag Prednisolon zu toxisch für die neugeborenen Gunn-Ratten. Deshalb wurden in einer weiteren Versuchsanordnung täglich 2 mg/kg Prednisolon gegeben.

Tab. III Gewichtstabelle in g bei 5 mg/kg Prednisolon s. c. täglich P = Prednisolon behandelte Tiere
K = Kontrolltiere

	NaCl bzw. Prednisolon														SDMO 200 mg/kg				
Lebenstag	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.
P						15	17	17	16	20	20	22	22	24	23	25	26	27	28
jj						9	13	11	14	15	14	16	19	20	19	20	22	22	22
						7	+												
						6	+												
K						15	19	19	20	22	22	27	29	30	31	33	24	26	27
						12	18	18	19	21	22	25	26	29	29	28	+		
						14	17	18	18	21	21	20	25	27	29	27	+		
						11	15	13	12	16	18	19	20	21	22	23	+		
						13	13	10	10	12	12	15	15	19	17	18	+		

Tab. IV Gewichtstabelle in g bei 5 mg/kg Prednisolon s.c. täglich P = Prednisolon behandelte Tiere K = Kontrolltiere

	NaCl bzw. Prednisolon													SDMO 200 mg/kg	
Lebenstag	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
P				6	7	8	10	11	12	15	15	17	20	19	23	
jj				5	7	8	8	9	10	10	10	10	15	14	17	
				6	8	9	7	+								
				4	5	8	5	+								
				+												
K				9	12	11	12	14	15	20	22	21	26	27	+	
				8	10	11	10	14	15	17	18	18	21	22	+	
				7	9	10	10	13	13	16	15	16	17	15	+	
				4	5	5	6	9	9	10	11	10	11	12	+	

Wie die Tab. V und VI veranschaulichen, war nun keine Gewichtsdifferenz mehr zwischen den mit Prednisolon behandelten Tieren und den Kontrollratten festzustellen, beide Kollektive gediehen gleich gut. Ein Schutzeffekt des Prednisolon gegenüber einer Bilirubinencephalopathie war aber nicht so eindeutig wie bei der Vorbehandlung mit 5 mg/kg/Tag nachzuweisen: Zwar bestand ebenfalls ein Unterschied in der Letalität zwischen den vorbehandelten und den Kontrolltieren, jedoch sahen wir nach Applikation von 100 mg/kg SDMO auch bei mehreren mit Prednisolon vorbehandelten Tieren Zeichen einer Bilirubinschädigung des Zentralnervensystems. Auf Grund der beschriebenen Ergebnisse wählten wir für unsere Hauptversuche eine mittlere Prednisolondosis von täglich 3 mg/kg Körpergewicht, die vier Tage lang subcutan gegeben wurde. Damit hofften wir, bei leidlich guter Gewichtszunahme einen gewissen Schutzeffekt gegenüber der Bilirubinencephalopathie nachweisen zu können (Tab. VII).

Tab. V Gewichtstabelle in g bei 2 mg/kg Prednisolon s.c. täglich, heterozygote Würfe
P = Prednisolon behandelte Tiere, K = Kontrolltiere

		NaCl bzw. Prednisolon												SDMO 100 mg/kg						
Lebenstag		2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
jj	P					10	10	11	13	13	10	14	18	20	20	21	21			
	K					8	10	10	12	13	13	15	17	20	18	+				
Jj	P					10	11	13	12	15	16	18	16	19	22	22	21			
						9	8	9	12	13	12	16	19	22	17	20	23			
						8	10	9	13	8	12	13	17	16	20	25	26			
	K					9	11	11	16	18	16	19	19	24	22	29	24			
						9	9	13	16	17	15	20	22	24	23	24	26			
						10	11	10	12	15	18	17	23	21	26	26	30			

		NaCl bzw. Prednisolon				SDMO 100 mg/kg														
jj	P	6	6	5	9	8	13	13	15	14	16	11	18	22						
		5	6	6	6	10	8	10	9	10	11	18	21	19						
		7	7	7	11	11	11	14	14	12	18	21	+							
	K	5	8	7	10	11	12	15	16	16	16	+								
		7	7	6	11	12	12	15	16	16	15	+								
		6	7	5	11	12	12	15	16	16	14	+								
Jj	P	6	6	7	10	12	13	14	15	15	17	19	23	21						
	K	6	6	5	11	11	13	15	16	16	19	29	23	25						

Tab. VI Gewichtstabelle in g bei 2 mg/kg Prednisolon s.c. täglich
P = Prednisolon behandelte Tiere, K = Kontrolltiere

	NaCl bzw. Prednisolon				SDMO 100 mg/kg			
Lebenstag	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.
P	11	14	15	15	16	16	17	20
	10	11	15	14	16	17	20	23
	12	13	13	14	16	17	17	16
JJ	12	14	14	13	17	17	19	20
	12	13	12	15	15	19	18	19
K	11	16	15	18	18	20	+	
	12	15	14	16	17	17	+	
	14	13	14	16	17	17	+	
	12	13	17	14	15	16	19	+
	10	11	13	13	15	13	15	+

Tab. VII Gewichtstabelle (Mittelwerte) in g bei Gabe von 3 mg/kg/die Prednisolon s. c. 4 Tage lang, ermittelt an hetero- und homozygoten Würfen
P = Prednisolon behandelte Tiere , K = Kontrolltiere
In Klammern Anzahl der Tiere

Lebenstag		5.	6.	7.	8.	9.	10.
JJ	P (3)	8,3	8,7	9,3	9,7		
	K (4)	7,5	8,3	8,8	9,3		
JJ	P (6)	7,8	8,2	9,5	9,7		
	K (5)	8,6	9,6	10,4	12		
JJ	P (4)		11,3	12,3	13,3	14	
	K (3)		12	12	14,7	15,7	
JJ	P (1)		10	12	12	12	
	K (1)		14	16	17	18	
Jj	P (2)		15	16	17	17,5	
	K (1)		13	14	15	16	

Versuche, in denen die Entwicklung eines "runting syndrome" dadurch umgangen werden sollte, daß die jungen Gunn-Ratten nur eine einzige Dosis von 5 mg/kg Prednisolon zugleich mit dem Sulfonamid erhielten, schlugen fehl. Bei dieser Versuchsanordnung war kein Effekt des Corticoids auf die Entwicklung der Bilirubinencephalopathie zu beobachten.

Ergebnisse des Hauptversuches

Tab. VIII und Tab. IX veranschaulichen die Ergebnisse des Hauptversuches. Tab. VIII zeigt einen deutlichen Unterschied in der Letalität nach Gabe von SDMO zwischen neugeborenen homozygoten Gunn-Ratten mit und solchen ohne Prednisolon-Vorbehandlung. Die Sulfonamiddosis wurde variiert: Signifikante Unterschiede in der Letalität traten bei SDMO-Dosen von 100 bis 200 mg/kg auf. Nach Applikation noch höherer SDMO-Mengen war die Sterblichkeit der beiden Kollektive annähernd gleich groß. Die Dosiswirkungskurve (Abb. 1) von SDMO ist bei den mit Prednisolon behandelten Ratten gegenüber den Kontrollen nach rechts verschoben, die LD_{50} zeigt eine signifikante* Abweichung bei den mit Prednisolon vorbehandelten Tieren. Daß für neugeborene heterozygote Gunn-Ratten auch hohe Sulfonamiddosen nicht toxisch sind, ergab die Behandlung einiger Würfe heterozygoter Muttertiere.

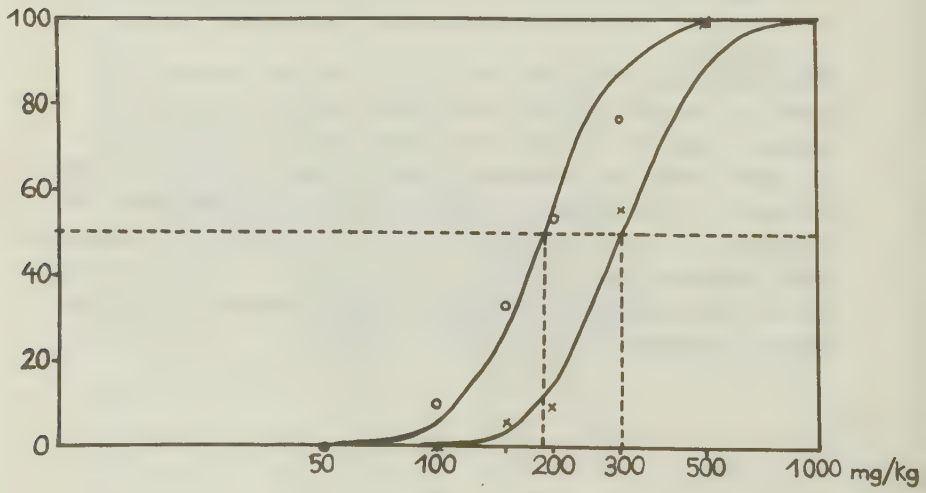
---

*Die Signifikanz wurde durch eine Probit-Analyse ermittelt. Sie ergab, daß ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen beiden Dosiswirkungskurven besteht. Beide Kurven zeigen eine signifikante Regression und verlaufen parallel. Die Letalität der nicht mit Prednisolon vorbehandelten Tiere nach SDMO ist 1,58 mal größer als nach Prednisolon-Vorbehandlung (relative Wirksamkeit). Dieser Wert hat einen 95 % Vertrauensbereich von 1,37 bis 1,93, d.h. mit 95 % Wahrscheinlichkeit liegt die wahre Wirkungssteigerung des SDMO bei den Kontrolltieren in diesem Bereich.

Tab. VIII **Letalität bei verschiedenen Dosen SDMO, untersucht an homozygoten Gunn-Ratten mit und ohne Prednisolon-Vorbehandlung**

SDMO	Kontrolltiere			Prednisolon beh. Tiere		
	Anzahl d. Tiere	davon gestorben	% Letalität	Anzahl d. Tiere	davon gestorben	% Letalität
50 mg/kg	11	0	0	-	-	-
100 "	10	1	10	10	0	0
150 "	15	5	33	16	1	6
200 "	38	21	55	40	4	10
300 "	13	10	77	16	9	56
500 "	9	9	100	8	8	100

Abb. 1 **Dosis-Wirkungs-Kurven von SDMO bei neugeborenen homozygoten Gunn-Ratten. Abszisse = mg/kg SDMO, Ordinate = % gestorbener Tiere. O = Kontrolltiere, x = Prednisolon behandelte Tiere.**



Tab. IX Hirnschäden und Letalität bei verschiedenen Würfen

SDMO	Kontrolltiere						Prednisolon behandelte Tiere					
	No.	No. mit K.I.				No.	Nr.	Nr. mit K.I.				Nr.
		Ø	I.	II.	III.	+		Ø	I.	II.	III.	+
A. 150 mg/kg 1 Tag												
Wurf a	4	2	-	1	-	1	3	2	-	1	-	-
b	3	1	-	-	1	1	3	2	-	-	1	-
c	3	1	-	-	1	1	4	4	-	-	-	-
d	1	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-
e	4	-	1	-	2	1	5	4	-	-	-	1
insgesamt	15	4	1	1	4	5	16	13	-	1	1	1
%		26,5	7	7	26,5	33		82	-	6	6	6
B. 200 mg/kg 2 Tage												
Wurf f	5	-	-	-	-	5	6	5	-	-	-	1
g	5	-	-	-	-	5	6	6	-	-	-	-
h	3	-	-	-	1	2	4	-	1	1	-	2
i	4	-	-	1	2	1	4	2	1	1	-	-
j	2	-	-	-	2	-	3	1	2	-	-	-
k	3	-	-	-	-	3	4	-	-	2	-	2
insgesamt	22	-	-	1	5	16	27	14	4	4	-	5
%		-	-	4,5	23	72,5		51,5	15	15	-	18,5

K.I. = Kernikterus + = gestorben Ø = keine Zeichen einer Hirnschädigung

I. = geringe klinische Zeichen eines K.I. (Ataxie, mangelnde Koordination)
II. = schwere klinische Zeichen eines K.I. (Hypotonie der Muskulatur, Athetose, Irritierbarkeit)
III. = moribunde Tiere (Opisthotonus, Krämpfe)

Die unterschiedliche Ausprägung der Cerebralschäden nach mittleren SDMO-Dosen zeigt die Tab. IX. Nach 150 mg/kg SDMO blieben 1/4 der Kontrolltiere ohne Symptome einer Bilirubinencephalopathie, 1/4 zeigte einen Kernikterus dritten Grades, 1/3 starb. Bei den mit Prednisolon vorbehandelten Tieren waren nach der gleichen SDMO-Dosis 4/5 symptomlos, 6 % hatten einen Kernikterus III. Grades, und 6 % starben. Nach der Applikation von 200 mg/kg SDMO zeigten sich ähnliche Ergebnisse: In der Kontrollgruppe blieb kein Tier ohne Cerebralschaden, knapp 1/4 hatte einen Kernikterus III. Grades; die Letalität betrug 72,5 %. Dagegen bot die Hälfte der mit Prednisolon vorbehandelten neugeborenen Gunn-Ratten keine Symptome, und die Letalität betrug nur 18,5 %. Nach Versuchsende wurde bei den meisten Tieren eine Autopsie durchgeführt. Es ergab sich eine Korrelation zwischen der Schwere der klinischen Symptome und der Intensität der Gelbfärbung der Gehirne. Vor allem die schwer geschädigten oder gestorbenen Ratten zeigten eine intensiv gelbe Färbung des Gehirns, die im Colliculus inferior und den Basalganglien und im Vermis cerebelli am stärksten ausgeprägt war. Ein Teil der geschilderten Versuchsergebnisse wurde im September 1968 mit Genehmigung des Dekans der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin im German Medical Monthly veröffentlicht.

Versuche zum Wirkungsmechanismus

Durch Bestimmungen des Gesamtbilirubin im Serum bei einem Teil der Tiere konnten wir nachweisen, daß die Bilirubinkonzentration im Serum nicht oder nur unwesentlich durch das Prednisolon beeinflußt wird (Tab. X). Sowohl die Kontrolltiere als auch die mit Prednisolon behandelten Gunn-Ratten hatten am 4. Versuchstag ein Serumbilirubin von ungefähr 12 mg/100 ml. Nach der Gabe von

150 mg/kg SDMO sank die Bilirubinkonzentration bei beiden Kollektiven auf ca. 3 mg/100 ml ab. Das Sulfonamid muß also sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den mit Prednisolon behandelten Tieren durch Verdrängung von Bilirubin aus der Albuminbindung die Abwanderung der gleichen Menge Bilirubin aus dem Intravasalraum bewirkt haben.

Tab. X Bilirubin im Plasma (Mittelwert ± mittlere Fehler)

	Kontrolltiere		Prednisolon behandelte Tiere	
	Anzahl Tiere	Bil. mg/100 ml	Anzahl Tiere	Bil. mg/100 ml
vor Na-sulphadimethoxine	15	12,4±0,5	15	12,9±0,4
24 Stunden nach 150 mg/kg Na-sulphadimethoxine	9	3,7±0,6	15	3,7±0,6

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte tierexperimentell geprüft werden, ob die Behauptung von RUHRMANN und STÜRMAN, daß Prednisolon einen Kernikterus verhindern könne, begründet ist. Mit einigen Vorbehalten, die unten erläutert werden sollen, haben unsere Experimente mit neugeborenen Gunn-Ratten in der Tat gezeigt, daß hohe Dosen von Prednisolon einen gewissen Schutz vor der Bilirubinencephalopathie ausüben. Zwei Drittel der mit Prednisolon vorbehandelten neugeborenen Ratten zeigten beim

Provokationstest mit Sulfadimethoxin klinisch keine Zeichen eines Kernikterus, während von den Kontrolltieren fast alle Tiere starben oder Zeichen einer unterschiedlich schweren Bilirubinencephalopathie boten.

Über die Wirkungsweise dieses Schutzeffektes lassen sich nur einige Spekulationen anstellen, zumal - wie in der Einleitung bereits ausgeführt - der Mechanismus der toxischen Wirkung von Bilirubin noch nicht genau geklärt ist. Sicher ist, daß das Prednisolon keinen oder nur einen unwesentlichen Einfluß auf den Bilirubinspiegel im Blutplasma hat. Es bewirkte keinen signifikanten Abfall des Serumbilirubin über eine Ausscheidung durch die Leber, die Nieren oder den Darm. Es ist vorstellbar, daß Prednisolon in hoher Dosierung einen Effekt auf biologische Membranen und damit auch auf die Bluthirnschranke hat (ROVIT und HAGAN 1968, PAPPIUS und McCANN 1969). So könnte es durch Abdichtung der Bluthirnschranke einen Übertritt des unkonjugierten Bilirubin ins Cerebrum verhindern und die Hirnzellen so vor dessen cytotoxischer Wirkung schützen. Als zweite Möglichkeit wäre eine Einwirkung auf den Zellstoffwechsel zu diskutieren, z.B. ein die Mitochondrien der Nervenzellen schützender Effekt (BLINDERMAN 1965) oder eine Stabilisierung der Lysosomen (WEISSMAN 1964).

Ein großer Nachteil der Behandlung mit Corticoiden sind die schweren Nebenwirkungen auf den neugeborenen Organismus. Wie WINICK und COSCIA zeigen konnten, führte die Injektion von 1 mg Cortisonacetat bei neugeborenen Ratten zu einer Destruktion des Thymus und des lymphatischen Gewebes mit nachfolgender Gewichtsabnahme. Außerdem kam es zu einer erhöhten Infektanfälligkeit und zu einer herabgesetzten immunologischen Toleranz. Auch bei unseren Versuchen war das Wachstum der neugeborenen Ratten gestört, und es traten vermehrt Infekte auf. RUHRMANN

berichtete auch über solche Nebenwirkungen und mußte die von ihm mit Prednison behandelten neugeborenen Kinder zum Infektionsschutz mit Penicillin und staphylokokkenwirksamen Penicillinderivaten behandeln.

Ein weiterer Nachteil der Therapie mit Prednisolon besteht darin, daß zur Entfaltung seiner Wirksamkeit eine Vorbehandlung von etwa 3 bis 5 Tagen Dauer notwendig ist. Unser Versuch, gleichzeitig mit der Provokation eines Kernikterus durch Gabe von SDMO mit Hilfe einer einmaligen hohen Dosis von Prednisolon einen Schutz zu erzielen, zeigte keinen Erfolg. So könnte durch Anwendung von Prednison bei der Behandlung der Hyperbilirubinämie wertvolle Zeit verloren gehen, und es könnte leicht eine irreversible Schädigung des Zentralnervensystems eintreten.

Im Vergleich zu der Wirksamkeit einer Austauschtransfusion ist der Schutz vor einer Bilirubinencephalopathie durch eine Prednisonbehandlung nicht hundertprozentig. Immerhin starb von unseren mit Prednisolon behandelten Versuchstieren ein Viertel oder hatte doch Zeichen eines Kernikterus. Auch konnten HANEFELD und NATZSCHKA in späteren histochemischen Untersuchungen von Kleinhirnen neugeborener Gunn-Ratten, die auf dieselbe Weise wie in unserer Versuchsanordnung behandelt worden waren, zeigen, daß auch diejenigen mit Prednisolon behandelten Ratten, die neurologisch unauffällig gewesen waren, einen Kernikterus boten. Im Kleinhirn dieser Ratten fielen die histochemischen Reaktionen wie bei den Kontrolltieren in zahlreichen pigmenthaltigen und pigmentfreien Purkinjezellen negativ aus. Zwischen den mit Prednisolon behandelten Ratten und den Kontrolltieren bestand nur ein Unterschied in der Anzahl bilirubinhaltiger Zellen, die bei den behandelten Tieren geringer war.

Bei der Diskussion der Ergebnisse muß weiterhin berücksichtigt werden, daß der Tierversuch ein relativ grobes Modell darstellt. Die Einteilung des Kernikterusgrades bei den neurgeborenen Ratten war schwierig und mit Mängeln behaftet. Objektive Werte waren lediglich die Letalitätsziffern. Weitere Versuche müßten ein genaues Verteilungsmuster des Bilirubin im Gehirn der Ratten bringen. Hier wären vielleicht Experimente mit radioaktiv markiertem Bilirubin angezeigt. Die zur Vervollkommnung unserer Ergebnisse notwendigen histologischen Untersuchungen sind später durchgeführt worden und werden demnächst veröffentlicht (HANEFELD und NATZSCHKA 1972).

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Behandlung von neugeborenen Gunn-Ratten mit hochdosiertem Prednisolon keinen sicheren Schutz vor einem Kernikterus bewirkte. Es bestanden zwar graduelle Unterschiede zwischen behandelten und nicht behandelten Tieren. Wir halten aber auf Grund der bisherigen Versuchsergebnisse eine Behandlung der kindlichen Hyperbilirubinämie mit Prednison für nicht vertretbar, zumal mit der Austauschtransfusion eine sichere und seit Jahrzehnten bewährte Behandlungsmethode zur Verfügung steht.

In den letzten Jahren sind alternativ zur Austauschtransfusion zwei weitere Methoden zur Prophylaxe des Kernikterus eingeführt worden, die mehr Erfolg versprechen als die Behandlung mit Prednison: die Fototherapie und die Enzyminduktion, z.B. durch Phenobarbital.

Zusammenfassung

Im Tierversuch an neugeborenen Gunn-Ratten wurde die Prophylaxe einer Bilirubinencephalopathie durch hochdosiertes Prednisolon untersucht. Bei diesen Tieren handelt es sich um einen Rattenstamm mit chronischer Hyperbilirubinämie. Die Gabe von 200 mg/kg Sulfadimethoxin in der zweiten Lebenswoche führte bei über 75 % der Kontrolltiere zu schwerem Kernikterus oder Tod. Das Sulfadimethoxin bewirkte durch eine Verdrängung des Bilirubin aus der Albuminbindung eine Bilirubinencephalopathie. Tiere, die mit Prednisolon (3 mg/kg als Kristallsuspension gegeben) 4 Tage lang vorbehandelt wurden, zeigten beim Provokationstest mit Sulfadimethoxin in 50 % keine Zeichen einer Schädigung des Zentralnervensystems durch das Bilirubin, die Letalität betrug nur ungefähr 20 %. Aus diesen Ergebnissen wurde der Schluß gezogen, daß durch Prednisolon in unserem Tierversuch ein gewisser Schutz vor der Bilirubinencephalopathie zu erzielen war. Als Wirkungsmechanismen wurden ein membranstabilisierender oder zellulärer, zum Beispiel Lysosomen oder Mitochondrien stabilisierender Angriffspunkt diskutiert. Die Versuchsergebnisse rechtfertigen unseres Erachtens aber nicht eine Behandlung der Hyperbilirubinämie bei neugeborenen Kindern mit Prednison. Die hochdosierte Prednisonbehandlung hat erhebliche Nebenwirkungen auf den neugeborenen Organismus, wie Störung der immunologischen Toleranz und Infektanfälligkeit, andererseits stehen bewährte und in ihrer Wirksamkeit sicherere Behandlungsmethoden zur Verfügung.

Zum Schluß möchte ich Frau Prof. Dr. L. Ballowitz und Herrn Priv.-Doz. Dr. J. Natzschka für die Themenstellung der Arbeit und die freundliche Beratung bei der Durchführung der Versuche recht herzlich danken. Mein Dank gilt auch Herrn Dr. I.M. Arias und seinen Mitarbeitern vom Albert Einstein College of Medicine, New York, die uns die Zuchttiere für unsere Gunn-Ratten-Kolonie zukommen ließen.

Literaturverzeichnis
==========

AZIZ, M.A. and A.R. SIDDIQUI: Congenital familial nonhemolytic hyperbilirubinemia in an adult with central nervous system derangement. Gastroenterology 52, 254-258 (1967)

BILLING, B.H. and G.H. LATHE: The excretion of bilirubin as an ester glucuronide, giving the direct van den Bergh reaction. Biochem. J. 63, 6 P. (1956)

BLANC, W.A. and L. JOHNSON: Studies on kernicterus. Relationship with sulfonamide intoxication, report on kernicterus in rats with glucuronyl transferase deficiency and review of pathogenesis. J. Neuropath. Exper. Neurol. 18, 165-187 (1959)

BLINDERMAN, E.: Effect of dexamethasone on mitochondria in anoxic brain. Arch. Neurol. 12, 278-283 (1965)

BLUMENSCHEIN, S.D., R.J. KALLEN, B. STOREY, J.C. NATZSCHKA, G.B. ODELL and B. CHILDS: Familial nonhemolytic jaundice with late onset of neurological damage. Pediatrics 42, 786-792 (1968)

BOWEN, W.R. and W.J. WATERS: Bilirubin encephalopathy: studies related to the site of inhibitory action of bilirubin on brain metabolism. Amer. J. Dis. Child. 93, 21-22 (1957)

BOWEN, W.R. and W.J. WATERS: The possible mechanism and site of bilirubin inhibition of electron transport. Amer. J. Dis. Child. 96, 507-508 (1958)

CARBONE, J.V. and G.M. GRODSKY: Constitutional nonhemolytic hyperbilirubinemia in the rat: Defect of bilirubin conjugation. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 94, 461-463 (1957)

CHEN, H., I.N. LIEN and T.C. LU: Kernicterus in newborn rabbits. Amer. J. Path. 46, 331 (1965)

CLAIREAUX, A.E., P.G. COLE and G.H. LATHE: Icterus of the brain in the newborn. Lancet 1953, II, 1226-1230

COWGER, M.L., R.P. IGO and R.F. LABBE: The mechanism of bilirubin toxicity studied with purified respiratory enzyme and tissue culture systems. Biochemistry 4, 2763-2770 (1965)

CRIGLER, J.F. jr. and V.A. NAJJAR: Congenital familial nonhemolytic jaundice with kernicterus. Pediatrics 10, 169-180 (1952)

DAY, R.: Inhibition of brain respiration in vitro by bilirubin: Reversal of inhibition by various means. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 85, 261-264 (1954)

DAY, R.: Kernicterus. Further observations on the toxicity of heme pigments. Pediatrics 17, 925-928 (1956)

DIAMOND, I.: Kernicterus: Revised concepts of pathogenesis and management. Pediatrics 38, 539-542 (1966)

DIAMOND I. and R. SCHMID: Experimental bilirubin encephalopathy. The mode of entry of Bilirubin^{14}C into the central nervous system. J. Clin. Invest. 45, 678-689 (1966)

DIAMOND, I. and R. SCHMID: Oxidative phosphorylation in experimental bilirubin encephalopathy. Science 155, 1288-1289 (1967)

ERNSTER, L.: The mode of action of bilirubin on mitochondria. In: Kernicterus, hrsg. von A. SASS-KORTSAK, University of Toronto Press, Toronto 1961, S. 174-192

ERNSTER, L., L. HERLIN and R. ZETTERSTRØM: Experimental studies on the pathogenesis of kernicterus. Pediatrics 20, 647-652 (1957)

GUNN, C.K.: Hereditary acholuric jaundice in a new mutant strain of rats. J. Hered. 29, 137-139 (1938)

HANEFELD, F. und J. NATZSCHKA: Histochemische Untersuchungen an jungen Gunn-Ratten mit Kernikterus. Klin. Wschr. 1972 (im Druck)

HAYMAKER, W., C. MARGOLES, A. PENTSCHEW, H. JACOB, R. LINDENBERG, S. ARROYO, O. STOCHDORPH, a. D. STOWENS: Pathology of kernicterus and posticteric encephalopathy. In: Kernicterus and its importance in cerebral palsy, hrsg. von C.A. SWINYARD. Springfield, III. 1962, Charles C. Thomas

HSIA, D.Y.Y., F.H. ALLEN, jr., S.S. GELLIS and L.K. DIAMOND: Erythroblastosis fetalis. VIII. Studies of serum bilirubin in relation to kernicterus. N. England J. Med. 247, 668-671 (1952)

JOHNSON, L., M.L. GARCIA, E. FIGUEROA and F. SARMIENTO: Kernicterus in rats lacking glucuronyl transferase. II. Factors which alter bilirubin concentration and frequency of kernicterus. Amer. J. Dis. Child. 101, 322-349 (1961)

MALLOY, H.T. and L. LOWENSTEIN: Hereditary jaundice in the rat. Canad. Med. Ass. J. 42, 122-125 (1940)

MARTIN, N.H.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXI. Interactions with bilirubin. J. Amer. Chem. Soc. 71, 1230-1232 (1949)

MENKEN, M., J.G. WAGGONER, and N.I. BERLIN: The influence of bilirubin on oxidative phosphorylation and related reactions in brain and liver mitochondria: Effects of protein binding. J. Neurochem. 13, 1241-1248 (1966)

MENKEN, M. and E.C. WEINBACH: Oxidative phosphorylation and respiratory control of brain mitochondria isolated from kernicteric rats. J. Neurochem. 14, 189-193 (1967)

MEYER, T.C.: A study of serum bilirubin levels in relation to kernicterus and prematurity. Arch. Dis. Childh. 31, 75-80 (1956)

NATZSCHKA, J., D. GROTH and L. BALLOWITZ: Protection from kernicterus by prednisolone in infant Gunn rats. German Med. Monthly 13, 443-445 (1968)

NATZSCHKA, J.C. and G.B. ODELL: The influence of albumin on the distribution and excretion of bilirubin in jaundiced rats. Pediatrics 37, 51-61 (1966)

ODELL, G.B.: Studies in kernicterus. I. The protein binding of bilirubin. J. Clin. Invest. 38, 823-833 (1959)

ODELL, G.B.: The dissociation of bilirubin from albumin and its clinical implications. J. Pediatr. 55, 268-279 (1959)

ODELL, G.B.: The distribution of bilirubin between albumin and mitochondria. J. Pediatr. 68, 164-180 (1966)

PAPPIUS, H.M. and W.P. McCANN: Effects of steroids on cerebral edema in cats. Arch. Neurol. 20, 207-216 (1969)

QUASTEL, J.H. and I.J. BICKIS: Metabolism of normal tissues and neoplasms in vitro. Nature 183, 281-286 (1959)

ROZDILSKY, B.: Kittens as experimental model for study of kernicterus. Amer. J. Dis. Child. 111, 161-165 (1966)

ROZDILSKY, B. and J. OLSZEWSKI: Experimental study of the toxicity of bilirubin in newborn animals. J. Neuropath. Exper. Neurol. 20, 193 (1957)

ROVIT, R.L. and R. HAGAN: Steroids and cerebral edema: The effects of glucocorticoids on abnormal capillary permeability following cerebral injury in cats. J. Neuropath. Exper. Neurol. 27, 277-299 (1968)

RUHRMANN, G. und E. STÜRMANN: Die Behandlung des Morbus hämolyticus neonatorum mit hochdosiertem Prednison. Z. Kinderheilk. 98, 197-207 (1967)

SCHENKER, S., D.W. McCANDLESS and P.E. ZOLLMAN: Studies of cellular toxicity of unconjugated bilirubin in kernicteric brain. J. Clin. Invest. 45, 1213-1220 (1966)

SCHMID, R.: Direct reacting bilirubin, bilirubin glucuronide, in serum, bile and urine. Science 124, 76 f. (1956)

SCHMID, R., J. AXELROD, L. HAMMAKER and R.L. SWARM: Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation. J. Clin. Invest. 37, 1123-1130 (1958)

SCHMORL, G.: Zur Kenntnis des Ikterus neonatorum, insbesondere der dabei auftretenden Gehirnveränderungen. Verh. Dtsch. Path. Ges. 6, 109-115 (1904)

SCHELLONG, G. und U. WENDE: Mikromethode zur Bestimmung des Serumbilirubins aus Kapillarblut bei Neugeborenen.
Arch.

SCHUTTA, H.S. and L. JOHNSON: Bilirubin encephalopathy in the Gunn rat: A fine structure study of the cerebellar cortex.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 26, 377-396 (196)

SCHUTTA, H.S. and L. JOHNSON: Clinical signs and morphological abnormalities in Gunn rats treated with sulfadimethoxine.
J. Pediatr. 75, 1070-107? (1969)

SCHUTTA, H.S., L. JOHNSON, and H.E. NEVILLE: Mitochondrial abnormalities in bilirubin encephalopathy.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 29, 296-305 (1970)

SILBERBERG, D.H. and H.S. SCHUTTA: The effects of unconjugated bilirubin and related pigments on cultures of rat cerebellum.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 26, 572-583 (1967)

STERN, L. and R.L. DENTON: Kernicterus in small prematures.
Pediatrics 35, 483-485 (1965)

TALAFANT, E.: Properties and composition of the bile pigment giving a direct diazo reaction.
Nature 178, 312 (1956)

VOGT, M.T. and R.E. BASFORD: The Effect of bilirubin on the energy metabolism of brain mitochondria.
J. Neurochem. 15, 1313-1320 (1968)

WATERS, W.J.: The protective action of albumin in bilirubin toxicity in newborn puppies.
In: Kernicterus, hrsg. von A. SASS-KORTSAK, University of Toronto Press, Toronto 1961, S. 219-221

WATERS, W.J., D.A. RICHERT, and H.H. RAWSON: Bilirubin encephalopathy. Pediatrics 13, 319-325 (1954)

WEISSMAN, G. and L. THOMAS: Effects of corticosteroids upon connective tissue and lysosomes. Recent Progr. in Hormone Research 20, 215-245 (1964)

WINICK, M. and A. COSCIA: Cortisone-induced growth failure in neonatal rats. Pediat. Res. 2, 451-455 (1968)

ZETTERSTRØM, R. and L. EPNSTER: Bilirubin, an uncoupler of oxidative phosphorylation in isolated mitochondria. Nature 178, 1335-1337 (1956)

ZUELZER, W.W. and R.T. MUDGETT: Kernicterus. Etiologic study based on an analysis of 55 cases. Pediatrics 6, 452-474 (1950)

Lebenslauf

Am 13.8.1944 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. Klaus Groth und seiner Ehefrau Adelheid geb. Wiese in Ballenstedt/Harz geboren. Meine Kindheit und Jugend verlebte ich zusammen mit meinen drei Brüdern in Berlin-Nikolassee. Im Herbst 1950 wurde ich in die Tewsschule Schlachtensee eingeschult, besuchte ab April 1956 das Schadow-Gymnasium Zehlendorf und wählte den altsprachlichen Zug. Nach bestandener Reifeprüfung im Frühjahr 1963 begann ich das Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin, wo ich 1966 das Physikum absolvierte. Im selben Jahre heiratete ich die Lehrerin Edelgard Weigel, 1966 wurde unser Sohn Christian, 1971 unsere Tochter Juliane geboren. 1969 bestand ich das Staatsexamen an der Medizinischen Fakultät der FU Berlin. Meine weitere Ausbildung als Medizinal-assistent erfuhr ich am Städt. Krankenhaus Spandau und am Rudolf-Virchow-Krankenhaus in Berlin-Wedding. Im Sommer 1970 erlangte ich die Approbation als Arzt und bin seit dieser Zeit als Assistenzarzt an der Chirurgischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses tätig.